Lane Medical Library

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Heidelberg
Direktor: Geheimrat Professor Dr. E. Kallius.

Die Ausscheidung von Fluorescein und Trypaflavin durch die Leber des Winterfrosches

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruprecht-Karls-Universität
zu Heidelberg

vorgelegt von

Ingeborg Ansorge
aus Hameln (Weser)

Gedruckt
im Tageblatt-Haus Coburg
1933

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg.

Dekan:
Professor Broemser

Referent:
Professor Hirt

1933

Die Ausscheidung von Fluorescein und Trypaflavin durch die Leber des Winterfrosches.

Mit ihrer Methode der Intravitalmikroskopie haben Ellinger und Hirt in früheren Arbeiten die Ausscheidung des sauren Fluoresceins und des basischen Trypaflavins in der Froschniere dargestellt. In der ersten Mitteilung, der Beschreibung der Methodik, wurde auch kurz die Ausscheidung des Fluoresceins und des Trypaflavins in der Leber besprochen. Eine eingehende Untersuchung des Mechanismus der Ausscheidung beider Farbstoffe in der Leber wurde von ihnen systematisch nicht durchgeführt und soll im folgenden beschrieben werden.

In der Zwischenzeit hat Hartoch mit der Methode von Ellinger und Hirt die von diesen schon früher beschriebenen Befunde an der Leber erneut beschrieben und die Ausscheidung des Fluoresceins in der Leber im Zusammenhang mit der Ausscheidung in der Niere untersucht. Im Laboratorium von Keller wurden durch Hallic und Gicklhorn die bereits früher gemachten Beobachtungen teilweise bestätigt.

Material und Methodik.

Sämtliche Untersuchungen wurden an *rana esculenta* ausgeführt. Die Tiere wurden durch Aufstreuen einer Messerspitze Urethan auf den Rücken betäubt. Nach Spaltung der Bauchhaut wurde ein Leberlappen durch einen Längsschnitt in die Bauchmuskulatur vorsichtig mit stumpfen Instrumenten vor die Bauchwand gezogen. Nach Auflagerung auf einen Wattebausch oder auf einen kleinen Messingtisch zur Ruhigstellung der Leber wurde das Tier unter das Lumineszenzmikroskop von

Zeiß gebracht. Die Beobachtung erfolgte mit Wasserimmersion; als Immersionsflüssigkeit und gleichzeitig als Berieselungsflüssigkeit wurde Tyrodelösung verwendet. Entsprechend der früher von Ellinger und Hirt angewandten Beobachtungsmethode wurde zunächst die normale Leber ohne Farbstoffinjektion in ultraviolettem Licht beobachtet. Als Ultraviolettfilter wurden die in der Apparatur an zwei Drehscheiben fest einmontierten Filter in den verschiedensten Kombinationen benutzt. Im Tubus als Sperrfilter gegen reflektiertes Ultraviolett und sichtbares Violett wurde das Filter GG 11/2 benutzt.

Durch die Kombination der an der Zeiß'schen Apparatur angebrachten Filter war es möglich, im Lauf der Beobachtung stets die jeweils günstigsten Lichtverhältnisse einzustellen. Auf die richtige Kombination der Ultraviolett-Filter und der Gelbgrün-Filter des Tubus sei eindrücklich hingewiesen. Man erhält ungünstige Bilder, wenn man im Tubus nicht das korrespondierende Sperrfilter einlegt. Nach der Beobachtung der normalen Leber im Ultraviolettlicht wurde Fluorescein oder Trypaflavin in den verschiedensten Verdünnungen, von 1 : 500 bis 1 : 100 000, in Mengen von 0,2 bis 1 ccm in den Schenkellymphsack, in die Bauchvene oder in den Magen eingespritzt. Die Ausscheidung der Farbstoffe wurde im akuten Versuch vom Beginn bis zum Ende beobachtet. Es sei hier gleich erwähnt, daß die Beobachtung ein und derselben Stelle nicht über Stunden dauern darf, sondern daß sie bei Anwendung stärkster Vergrößerungen in Intervallen erfolgen muß. Eine andauernde längere Belichtung der mit Fluorescein angefärbten Leber ergibt mit Sicherheit einen lokalen, wenn auch reversiblen Lichtschaden. Diese Schädigung führt meist zu einer diffusen Färbung der Leberzellen an der belichteten Stelle, die mehrere Stunden anhält, um dann wieder zu verschwinden. Sie läßt sich durch Unterbrechung der Beobachtung und Einschränkung der Belichtungszeit auf ein Mindestmaß vermeiden. Da

mit Ausnahme der Anfangsperiode alle Bilder im normalen Geschehen sich nur sehr langsam verändern, können trotzdem alle Phasen der Ausscheidung im Zusammenhang beobachtet werden. Als Berieselung muß eine isotonische Lösung benutzt werden, da jede Aenderung der Kochsalzkonzentration zu Zellschädigungen führt. Aus diesem Grunde habe ich Tyrodelösung, daneben auch die gepufferte Rhode-Saitolösung, zur Berieselung benutzt. Beide Lösungen geben stets die gleichen Bilder.

Die Frösche wurden im Keller bei einer Durchschnittstemperatur von 10 Grad gehalten. Im geheizten Zimmer mit höherer Temperatur wurde der Objekttisch durch aufgelegte Eisstückchen gekühlt. Auf diese Weise konnten die über 6—10 Stunden ausgedehnten Beobachtungen ohne Störungen der Zirkulation durchgeführt werden. Um alle Einwände wegen etwaiger äußerer Schädigung auszuschalten, habe ich die Versuche in zwei Reihen angelegt:

1. Akuter Versuch: Beobachtung der Ausscheidung schwächerer und stärkerer Konzentrationen von Farbstoff an einem Tier im Verlauf von sechs bis zehn Stunden.
2. Chronischer Versuch: Ausscheidung von schwächeren und stärkeren Konzentrationen von Farbstoff an einer Reihe von Tieren nach einigen Stunden bis mehreren Tagen. Im chronischen Versuch wurden aus der gespritzten Tierreihe je zwei Tiere nach bestimmter Zeit eröffnet und der jeweilige Zustand der Ausscheidung festgestellt.

Durch bestimmte Eingriffe wurde ferner im akuten Versuch die Ausscheidung nach der einen oder anderen Richtung geändert.

Die ungefärbte Leber im ultravioletten Licht.

Die Leber des Frosches besaß am unbehandelten Tier eine individuell sehr verschiedene Eigenfluoreszenz, die sich im Verlauf der Beobachtungsperiode von

Oktober bis Ende Februar änderte. Von Oktober bis Januar waren zwei verschieden fluoreszierende Bestandteile in der Leber festzustellen. Die Leberzellen fluoreszierten bei Anwendung von Filter BG 3 2/5 einfach und Gelbfilter GG 11/2 in einem diffus grünen Licht. Längs der Blutkapillaren leuchteten eine Anzahl feiner Granula in einem ocker- bis chromgelben Licht auf. Diese Granula waren in den einzelnen Lebern sehr verschieden stark vorhanden. Neben Lebern, in denen sie nur ganz spärlich vorkamen, konnte ich solche beobachten, in denen die leuchtenden Granula über das ganze Organ in größeren Massen verteilt waren. Diese Granula waren nicht lichtbeständig. Nach kurzer Belichtung (80—90 sek.) wurden sie unsichtbar. Der in den Leberzellen diffus verteilte Farbstoff dagegen scheint lichtbeständiger zu sein, da ich trotz längerer Beobachtung keine Veränderungen sehen konnte. In den Leberzellen fanden sich weiterhin, ungleichmäßig über das Organ verteilt, rötlich-gelb aufleuchtende Stellen, die ungefähr Leberzellgröße erreichten. Auch diese durch ihre besondere Helligkeit auffallenden Stellen konnten durch Belichtung mit Ultraviolettlicht ausgelöscht werden.

Gegen Ende Januar und im Februar beobachtete ich außerdem im Zentrum der Leberzellen breitere, braungelb fluoreszierende Streifen, die ungefähr die zwei- bis vierfache Breite der Gallenkapillaren hatten. Diese Streifen zogen sich über die ganze Leber hin und bezeichneten deutlich die Achse der Leberzellbalken. Bei stärkerer Vergrößerung lösten sich diese Streifen in feinste Körnchen auf. Während der Laichperiode war in der Anordnung der spontan fluoreszierenden Farbstoffe eine weitere Aenderung zu beobachten. Das grüne Fluoreszenzlicht der Leberzellen nahm ab, die zentral gelegenen braungelben Streifen wurden schmaler, erreichten die Breite der Gallenkapillaren, um schließlich am Ende der Laichperiode wieder zu verschwinden. Man hat in dieser Zeit den Eindruck, daß

dieser leuchtende Farbstoff während der Laichperiode ganz allmählich in die Gallenwege ausgeschieden wird und zwar bei weiblichen und bei männlichen Tieren in gleicher Weise. Die feinen Granula, die ocker- bis chromgelb aufleuchteten und ebenso die größeren rötlichgelb leuchtenden Stellen blieben während der Laichzeit unverändert.

Die äußerst langsame Art der Ausscheidung des braungelb leuchtenden Farbstoffes spricht nicht dafür, daß es sich hier um Gallenfarbstoff handelt. Es ist eher anzunehmen, daß es sich hier um einen der von Kuhn, Gyorgy und Wagner-Jauregg aus der Leber gewonnenen fluoreszierenden Farbstoffe handelt, die sie mit dem Sammelnamen Flavine bezeichnet haben. Aehnlich fluoreszierende Farbstoffe in der Leber wurden von Schaffer gefunden. Da er sich über ihre Natur kein sicheres Urteil machen konnte, nannte er den leuchtenden Farbstoff „Leuchtstoff X". Ich habe im Schnittbild festgestellt, daß ein Teil der leuchtenden Pünktchen Pigmenteinschlüsse in die Kupfferschen Sternzellen darstellt. Wenn Schaffer sagt, daß Pigmentgranula nicht fluoreszieren, so gilt das sicher für einen großen Teil der Pigmente. Ich habe aber im frischen Gefrierschnitt festgestellt, daß ein Teil der Pigmentkörnchen deutlich in hellgrünem Licht aufleuchtet, während andere nicht fluoreszieren. Da allerdings die Fluoreszenz der Granula nach kurzer Belichtung verschwunden ist, eine Beobachtung, die Kuhn, Gyorgy und Wagner-Jauregg auch an ihren Flavinen machten, so besteht die Möglichkeit, daß eine Anzahl der fluoreszierenden Pigmentgranula bereits ausgelöscht waren, ehe sie zur Beobachtung kamen. Bei den größeren, rötlichgelb leuchtenden Flecken war im Schnittbild festzustellen, daß es sich hier um große Anhäufungen von Pigment handelt, die teilweise in prall gefüllten Mastzellen liegen. Ich konnte am Gefrierschnitt auch hier beobachten, daß nur ein kleiner Teil dieser Pigmenthaufen im Fluoreszenzlicht aufleuchtet, während an-

dere keine Spur von Eigenfluoreszenz zeigen. Es ist auffallend, daß am lebenden Organ die Körnchen und Flecken mit Eigenfluoreszenz erheblich zahlreicher sind als im Schnittbild. Das diffuse Aufleuchten der Zellen im Schnittbild war ziemlich stabil. Wenn auch über die Natur der einzelnen aufleuchtenden Farbstoffe nichts sicheres gesagt werden kann, so läßt sich doch annehmen, daß es sich hier um mindestens zwei, wenn nicht drei verschiedene Stoffe handelt, die in der Leberzelle zu finden sind. Der erste dieser Stoffe dürfte an Pigmentgranula in irgendeiner Form gebunden sein. Der zweite findet sich diffus in der Leberzelle verteilt und scheint mit den Eiweißkörpern des Protoplasmas in Verbindung zu stehen, da weder das Fett noch das Glykogen am lebenden Organ irgendwelche Fluoreszenzerscheinungen zeigen. Der Dritte der Farbstoffe, der während der Laichperiode mit der Galle ausgeschieden wird und den ich nicht für Gallenfarbstoff halte, könnte unter Umständen aus einem der ersten beiden entstanden und auf diesem Wege zur Abgabe in den Organismus gelangt sein. Alle bis jetzt vorliegenden Untersuchungen über die in der Leber vorkommenden Farbstoffe geben allerdings noch keinen endgültigen Aufschluß über ihre wahre Natur. Meine Beobachtungen können das ebensowenig tun. Ob die periodische Verschiebung in Bezug auf die Menge und die Lagerung dieser Farbstoffe in der lebenden Zelle mit den histologischen Veränderungen der Leber während der Laichzeit oder mit der Umstimmung des Gesamtorganismus in der Brunst in Zusammenhang gebracht werden soll, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Die Umstimmungen des Amphibienorganismus im Winter und im Sommer wurden früher schon von Ellinger und Hirt für die Ausscheidung des Fluoresceins und Trypaflavins in der Niere festgestellt.

Ueber die Lagerung der feingranulierten Pigmentkörnchen in der Leber von *rana fusca* berichtet W. Berg. Seine Beobachtungen über die Verteilung der feinen

Pigmentkörnchen decken sich mit den meinigen nahezu vollkommen. Er beobachtete zunächst teils in den Gefäßlichtungen, teils in den Gefäßwänden einzeln oder in Gruppen liegende Zellen, die feinkörniges, dunkelgrünes und zum Teil grobkörniges Pigment enthielten. In ähnlichem Verhältnis fand er Pigmentkörnchen in den Kupfferschen Sternzellen. Ich fand bei der Beobachtung an der ungefärbten lebenden Froschleber die feinen Körnchen in einem chromgelben Licht fluoreszieren, die gröberen in einem rötlichgelben Licht. Berg ist in der Ansicht, daß es sich bei den in der Blutbahn befindlichen Zellen, die sich zum Teil an die Gefäßwand anlegen, um Lymphocyten handelt, die durch Phagozytose von Erythrocyten mit Pigment beladen werden. Diese Lymphocyten wandern aktiv aus den Blutkapillaren aus, schieben sich zwischen die Leberzellen und gelangen bis zur Oberfläche des Organs, wo sie sich unter der Kapsel ansiedeln können. So kommt es, daß unter der Kapsel an der Leberoberfläche bei einzelnen Tieren große Mengen von pigmenthaltigen Zellen zu finden sind. Diese von Berg beschriebenen, ganz dicht mit Pigmentkörnchen bepackten Zellen dürften den in rötlichgelbem Licht fluoreszierenden Flecken entsprechen. Wie vorstehend gesagt, fluoresziert aber von diesen Pigmenthaufen nur ein Teil. Ob es sich hierbei um eisenhaltige oder eisenfreie Pigmente handelt, ließ sich in den Untersuchungen nicht entscheiden.

Die normale Ausscheidung des Fluoresceins beim Winterfrosch im akuten Versuch.

Nach subcutaner Injektion von ½ ccm Fluorescein 1 : 500 erscheint der Farbstoff bei guter Zirkulation nach 3—5 Minuten im Serum der Lebervenen. Bei Anwendung stärkerer oder schwächerer Konzentrationen wird der Farbstoff früher oder später im Serum sichtbar. Die von mir festgestellten Zeiten von 40 ausgewer-

teten Versuchen schwanken zwischen 3 und 10 Minuten. Nach weiteren 5—15 Minuten kommt es zu einer gleichmäßigen Anfärbung der Leberzellen. Sie macht sich durch immer helleres Aufleuchten der Leberzellbalken bemerkbar, die, ursprünglich dunkler als das hellgrün aufleuchtende Blutserum, langsam dessen Anfärbungsgrad erreichen. Der Uebertritt des Farbstoffes aus dem Blut in die Leberzellen erfolgt unmerklich in geringer Konzentration.

In ca. 20 Prozent der Fälle beobachtete ich, daß das Fluorescein an einzelnen Stellen innerhalb der Leberzellen besonders stark angereichert wird. Es treten in einer Leberzelle kleine hell aufleuchtende Fluoresceinflecken auf, die ungefähr Kerngröße haben und in wenigen Minuten an Umfang zunehmen, bis sie schließlich zu größeren hellgrün aufleuchtenden Seen werden, die sich über mehrere Zellen ausdehnen können. Man hat den Eindruck, daß innerhalb der Leberzellbalken einzelne Stellen sind, die mit besonderer Gier das Fluorescein an sich reißen. Da die Leberzellen immer mehr an Helligkeit zunehmen, verwischen die Grenzen der Seen, und es wird eine gleichmäßige Färbung des Leberzellbalkens erreicht; in diesem Augenblick der Ausscheidung hat das Protoplasma der Leberzellen die gleiche Helligkeit wie das Serum der Blutkapillaren. Jetzt erfolgt eine völlig gleichmäßige Anfärbung der Gallenkapillaren. Diese geht so schnell vor sich, daß schon wenige Sekunden nach dem ersten schwachen Auftreten der Gallenkapillaren ein voll ausgefärbtes Netz zu sehen ist. Die Helligkeit der Gallenkapillaren übertrifft wesentlich die der Leberzellen. Die Ausfärbung der Gallenkapillaren tritt bei Einspritzung in den Schenkellymphsack nach 20—60 min. ein, wobei die längste Zeit bis zum Auftreten der Gallenkapillaren (60 min.) bei einer Verdünnung von 1 : 100 000 beobachtet wird. Dieses Bild der vollständigen Ausfärbung der Gallenkapillaren bleibt im akuten Versuch 30 min. bis mehrere Stunden bestehen, je nach

der Menge des eingespritzten Farbstoffes. In allen Fluoresceinversuchen, unabhängig von der angewandten Konzentration, habe ich bei guter Zirkulation stets ein gleichmäßig und plötzlich auftretendes Gallenkapillarnetz über das ganze Gesichtsfeld beobachtet. Ein Vorschieben des Farbstoffes, wie es von Ellinger und Hirt und später von Hartoch analog für die Niere beschrieben wurde, konnte ich in den Gallenkapillaren nicht beobachten, was bei der morphologischen Anordnung des Gallenkapillarnetzes verständlich ist.

Fast gleichzeitig mit der Anfärbung der Gallenkapillaren findet sich der Farbstoff in der Gallenblase Um die Ausscheidung des Farbstoffes nach der Gallenblase sicher festzustellen, wird in die Gallenblase eine feine Glaskanüle eingebunden und unter Beleuchtung mit Ultraviolettlicht beobachtet. Dabei habe ich festgestellt, daß der Farbstoff fast gleichzeitig mit dem Auftreten der Gallenkapillaren in der Kanüle erscheint, die dann aufleuchtet. Ebenso habe ich ein allmähliches Vorrücken des Fluoresceins in der Glaskanüle beobachtet. Quantitative Messungen des Farbstoffes habe ich nicht gemacht.

Mit zunehmender Anfärbung der Gallenkapillaren verlieren die Leberzellen an Helligkeit. Es treten im Verlauf der Gallenkapillaren Verdickungen auf. Auch das Serum nimmt an Helligkeit ab, zumal gleichzeitig in der Niere der Farbstoff in großen Mengen ausgeschieden wird. Der weitere Ablauf der Ausscheidung vollzieht sich bei sämtlichen Versuchen gesetzmäßig, nur zeitlich verschieden, je nach den eingespritzten Konzentrationen des Farbstoffes. Bei fortschreitender Entfärbung treten recht und links von den Gallenkapillaren helle Tröpfchen auf, die in der gleichen Stärke wie die Gallenkapillaren aufleuchten. Bei vorsichtiger Beobachtung läßt sich deutlich erkennen, wie diese Tröpfchen durch feine Ausläufer mit den Gallenkapillaren in Verbindung treten. Sie tauchen immer zahlreicher rings um die Gallenkapillaren auf und

fließen allmählich zu größeren Tropfen zusammen. Dabei erkennt man deutlich ein Dünnerwerden der Gallenkapillaren. Jetzt brechen die Gallenkapillaren langsam ab und zerfallen in eine Anzahl Punkte, die nach und nach verschwinden, so daß man den Eindruck gewinnt, daß der Farbstoff durch nachgeschobenes Wasser oder nicht leuchtende Galle immer mehr verdünnt und dadurch ausgeschwemmt wird. Man findet nach 6 bis 8 Stunden nur noch an ganz vereinzelten Stellen ein Gallenkapillarnetz angedeutet. Wenn jetzt am Ende der Ausscheidung erneut Fluorescein eingespritzt wird, auch intravenös, kommt es zwar noch zur Anfärbung der Leberzellen, aber nicht mehr zur Ausscheidung durch die Gallenkapillaren.

Zeitlich läßt sich der Ablauf der eben geschilderten Ausscheidung zweifellos durch die Belichtung oder Berieselung beschleunigen, was daraus hervorgeht, daß die in der Bauchhöhle verbliebenen nicht beobachteten Leberlappen, die am Ende der Beobachtungszeit untersucht wurden, stets zeitlich hinter der am belichteten Lappen beobachteten Phase zurückstanden. Wenn z. B. in dem dauernd beobachteten Leberlappen die erste Tröpfchenbildung auftrat, war im geschonten Leberlappen noch ein vollständig ausgefärbtes Gallenkapillarnetz zu sehen. Wenn weiter im dauernd beobachteten Leberlappen die Gallenkapillaren restlos verschwunden waren, war im geschonten Leberlappen erst das Stadium der Tröpfchenbildung bei gerade noch sichtbaren Gallenkapillaren erreicht.

Die im ungefärbten Präparat sichtbaren Spontan-Granula werden mit zunehmender Anfärbung der Leber mit Fluorescein unsichtbar. Sie treten am Ende der Versuchsperiode nach Dunklerwerden der Leberzellen und des Serums wieder auf und leuchten in unverminderter Stärke weiter. Daraus geht hervor, daß diese Granula zellgebunden sind und mit der Ausscheidung direkt nichts zu tun haben. Sie werden während

der Ausscheidung lediglich vom Fluoreszenzlicht überstrahlt.

Zur Erläuterung des Ablaufes eines Normalversuches gebe ich ein Protokoll wieder:

Nr. 34. 28. 11. 1932. Winterfrosch:
Filter B G 3 2,5 einfach
Okular 7
Objektiv 75

14,30 Uhr: Eine Messerspitze Urethan auf den Rücken.

15,00 Uhr: Eröffnet.

15,05 Uhr: Ungefärbte Leber: Die Leberzellen fluoreszieren diffus grün-braun. Gefäße als dunkle Stränge sichtbar, Serum und Blutzellen dunkel, Zirkulation sehr gut. Ueber und neben den Gefäßen leuchten massenhaft feine Granula in chromgelber Farbe auf. An einzelnen Stellen liegen diese Granula auch im Leberzellbalken. Außer diesen Granula liegen an der Gefäßseite innerhalb der Leberzellen größere Schollen rötlichgelb bis bräunlich gefärbter Pigmenthaufen.

15,15 Uhr: $^1/_2$ ccm Fluorescein 1 : 500 in den rechten Schenkellymphsack.

15,21 Uhr: Serum hellgrün, Zirkulation sehr gut, Leberzellen noch unverändert. Eigenfluoreszenz wie 15,05 Uhr.

15,29 Uhr: Serum heller und stärker gefärbt, Leberzellen beginnen sich langsam anzufärben, Eigenfluoreszenz noch unverändert sichtbar, bei längerer Belichtung verschwinden die feinen chromgelben Granula.

15,36 Uhr: Leberzellen über der ganzen Leber grün fluoreszierend, in einigen Zellen große Placks von Farbstoff. Eigenfluoreszenz noch gut sichtbar, aber etwas blasser als im ungefärbten Bild. Zirkulation gut, Serum etwas heller grün leuchtend als die Leberzellen.

15,38 Uhr: Leberzellen fluoreszieren in derselben Farbe und Helligkeit wie das Blutserum. Eigenfluoreszenz schwächer, scheint überstrahlt von den voll ausgefärbten, hell fluoreszierenden Leberzellen.

15,40 Uhr: Schlagartiges Auftreten von Gallenkapillaren, gleichzeitig im ganzen Gesichtsfeld ein leuchtendgelb fluoreszierendes Netz. Auch an den anderen Stellen der Leber ist gleichmäßig ein schon voll ausgefärbtes hellgelbes Netz von Gallenkapillaren zu sehen. Leberzellen fluoreszieren hellgrün. Eigenfluoreszenz nur noch ganz vereinzelt sichtbar. Zirkulation gut. Serum hellgrün. An einer Gefäßgabelung liegen kleine, glasartige, durchsichtige Kügelchen, die auch unter Belichtung unverändert bleiben.

16,10 Uhr: An keiner Stelle der Leber ist mehr Eigenfluoreszenz zu sehen. Serum beginnt sich zu entfärben, die Leberzellen sind hellgrün und zwar heller als das Serum. Zirkulation gut. Gallenkapillaren breiter geworden, an den Kreuzungsstellen kleine Verdickungen. An einer Stelle ist ein in der Größe einer Leberzelle gelbgrün fluoreszierender See zu sehen, scharf gegen die Umgebung mit doppelt konturiertem Rand abgegrenzt. In der Nachbarschaft dieses Farbstoffp'acks scheinen die Leberzellen verändert, es sind kleine Einäl'ungen innerhalb der einzelnen Zellen, das ganze zeigt das Bild einer Mondlandschaft. Gallenkapillarnetz auch hier voll ausgefärbt. Keine Eigenfluoreszenz.

16,30 Uhr: Gallenkapillaren zeigen im Verlauf mehrere Verdickungen. Die Tröpfchen sind jetzt überall an den Kreuzungsstellen. Auch seitlich der Kapillaren treten feine Tröpfchen auf, die mit den Gallenkapillaren durch dünne Kanälchen in Verbindung stehen.

16,37 Uhr: Unverändert. Zirkulation gut.

17,28 Uhr: Seitlich der Gallenkapillaren sind jetzt in großen Mengen Tröpfchen aufgetreten, die zum Teil noch mit den Kapillaren kommunizieren. Auch im Verlauf der Gallenkapillaren haben sich Tröpfchen gebildet. Gallenkapillarnetz überall noch vollständig erhalten. Keine Eigenfluoreszenz. Zirkulation gut.

17,32 Uhr: Tröpfchen werden größer, mehrere kleine fließen zu einem großen zusammen. An dieser Stelle sind die Gallenkapillaren dünner geworden. An einer anderen sind 7 feine Tröpfchen zu sehen, die noch mit der Kapillare zusammenhängen.

17,34 Uhr: Eines dieser Tröpfchen wird von der Seite aufgelöst, nimmt Kreuzform an, fällt ganz auseinander und läuft mit den zwei nächstliegenden Tropfen zu einem großen zusammen. Der Zusammenhang mit der Kapillare ist gelöst. Die 4 anderen Tropfen zerfallen ebenso, die Gallenkapillaren bröckeln ab. Die Leberzellen entfärben sich immer mehr.

18,15 Uhr: Unverändert.

18,20 Uhr: Zirkulation gut, Serum völlig entfärbt, dunkel. An einzelnen Stellen mit entfärbten Leberzellen ist wieder eine mäßige Eigenfluoreszens zu sehen. Gallenkapillaren nur an einigen Stellen noch völlig erhalten, zu beiden Seiten große Tröpfchenreihen. Die Tröpchen sind verschieden groß und werden zusehends zahlreicher.

18,35 Uhr: Unverändert.

18,46 Uhr: Eine Messerspitze Urethan.

18,50 Uhr: An allen Stellen des beobachteten Leberlappens sind die Gallenkapillaren abgebröckelt, die Tropfen zu kleinen

Seen zusammengeflossen, die an keiner Stelle mehr eine Verbindung mit einer Kapillare haben. Leberzellen diffus braungrün. Eigenfluoreszenz stärker sichtbar, feine helle Granula über den Gefäßen, größere rötlichgelbe Pigmenthaufen an der Gefäßseite der Leberzellen. Zirkulation gut.

19,12 Uhr: Die 18,50 Uhr beschriebene Stelle zeigt das Bild eines Sternhimmels, nur noch Tropfen und größere Seen sichtbar. Serum dunkel, Zirkulation gut.

19,30 Uhr: Unverändert.

19,52 Uhr: In den Leberzellen große Farbstoffseen. An einigen Stellen sieht man ungefärbte entleerte interzelluläre Gallenkapillaren. Zirkulation sehr gut. Eigenfluoreszenz über der ganzen Leber sichtbar.

20,20 Uhr: Leberzellen ganz entfärbt, Gefäße dunkler als Leberzellen, Zirkulation nicht zu erkennen.

20,43 Uhr: Tröpfchen nur noch vereinzelt, keine Gallenkapillaren mehr zu sehen, in allen Leberzellbalken nur mehr große Seen von Farbstoff. An einer Stelle am Rand des Leberlappens auch keine Seen mehr, sondern mittelhelle entfärbte Leberzellen, dunkle Gefäße, mäßig eigenfluoreszierende Granula.

21,15 Uhr: Gallenblase: fluoresziert stark, Zirkulation gut, Serum hellgrün, angestochen entleert sich stark fluoreszierende Galle.

21,40 Uhr: In der Leber an fast allen Stellen kein Farbstoff mehr zu sehen. Gesichtsfeld dunkel, Eigenfluoreszenz wieder sichtbar wie am ungefärbten Bild.
Leber herausgeschnitten und in 4prozentiger Formollösung fixiert.

In der eben geschilderten Weise verläuft die Ausscheidung des Fluoresceins beim lebenden Tier, gleichgültig ob der Farbstoff subcutan, intravenös oder in den Magen eingespritzt wird. Die einzigen Unterschiede bestehen im zeitlichen Ablauf. Bei intravenöser Einspritzung (Bauchvene) leuchtet das Serum in den Lebervenen sofort auf und fast gleichzeitig färben sich die Leberzellbalken an, während bei subcutaner Einspritzung ungefähr 3—5 Minuten bis zur Anfärbung des Serums und weitere 5—15 Minuten bis zur Anfärbung der Leberzellbalken vergehen. Schließlich tritt bei Einspritzung in den Magen in starker Verdünnung das Fluorescein erst nach etwa 20 Minuten in den Lebervenen auf. Die Leberzellen färben sich nach un-

gefähr 37 Minuten an, wobei die Gallenkapillaren fast gleichzeitig sehr schwach sichtbar werden. Allmählich werden die Gallenkapillaren deutlicher und erreichen nach weiteren 15 Minuten den Höhepunkt an Ausfärbung. Im übrigen ist auch bei der Aufnahme durch den Magen der Ausscheidungsmechanismus derselbe.

Die Ausscheidung des Fluoresceins im chronischen Versuch ergab den gleichen Ablauf, der in den akuten Versuchen beobachtet wurde. Dabei konnte ich 3 Tage nach der Injektion von 1 ccm Fluorescein 1 : 500 in den Schenkellymphsack noch ein vollständig ausgefärbtes Gallenkapillarnetz mit nur geringer Tröpfchenbildung beobachten. Nach 6 Tagen waren die Gallenkapillaren nur noch schwach sichtbar, stellenweise zu Tröpfchen abgebröckelt, zum Teil auch völlig verschwunden. 17 Tage nach der Injektion war von Fluorescein in der Leber nichts mehr zu sehen (siehe Tabelle). Der Unterschied im zeitlichen Ablauf der Ausscheidung im akuten und im chronischen Versuch dürfte darin zu suchen sein, daß der Farbstoff beim überlebenden Tier teils durch Rückresorption in der Niere und Harnblase, teils durch Rückresorption in der Gallenblase und Resorption aus dem ausgeschiedenen Harn durch die Haut immer wieder in die Blutbahn gelangt und erneut ausgeschieden wird. Die im akuten Versuch beobachteten Ruhephasen müssen auch für die chronischen Versuche angenommen werden. Sie dürften in Intervallen von 3—4 Stunden eintreten. Bei der Ausscheidung des Fluoresceins in der Niere haben Ellinger und Hirt festgestellt, daß die Ausscheidung im Glomerolus weitgehend abhängig ist vom Blutdruck und daß bei einer Ausschaltung der Glomeroli der Farbstoff durch das Epithel und die Tubuli aus dem Pfortadernetz ausgeschieden wird. Um auch für die Leber die Abhängigkeit der Ausscheidung vom Blutdruck festzustellen, habe ich in mehreren Versuchen einseitig die Pfortader unterbunden.

Unterbindung der Pfortader.

Nach intravenöser Einspritzung von ½ ccm Fluorescein 1 : 500 beobachtete ich im unterbundenen Leberlappen mit stillgestellter Zirkulation und im nicht unterbundenen Leberlappen mit sehr guter Zirkulation nahezu gleichzeitig eine vollständige Ausfärbung des Gallenkapillarnetzes. Dieses verhielt sich bei der weiteren Beobachtung nicht anders als in den oben geschilderten Normalversuchen und an dem nicht unterbundenen Kontrolleberlappen. In diesem Falle konnte der Farbstoff entweder durch die Arterie oder rückläufig durch die *vena cava via vena hepatica* in das Organ gelangt sein, wobei die Möglichkeit nicht auszuschließen ist, daß der Farbstoff auch aus der Umgebung (Bauchhöhle) in die Leber gelangt sein konnte.

Da aus diesen Versuchen hervorgeht, daß allem Anschein nach für die Ausscheidung des Farbstoffes in die Gallenkapillaren einer guten Zirkulation in den Lebervenen, also demnach dem in den Lebervenen herrschenden Blutdruck, keine wesentliche Bedeutung zukommt, habe ich einem dekapitierten Frosch das Herz herausgeschnitten und das Tier ausbluten lassen. 5 Minuten nach Entfernung des Herzens wurde intravenös (Bauchvene) ½ ccm Fluoreszein 1 : 500 eingespritzt, die *vena cava* cranial von der Leber abgebunden die Leber sofort herausgeschnitten und unter Kochsalzberieselung beobachtet. In dieser völlig aus dem Kreislauf herausgenommenen Leber traten nach 20 Minuten deutliche Gallenkapillaren auf, die in der Vollständigkeit der Ausfärbung nicht hinter dem Normalversuch zurückblieben. Ebenso war nach weiteren 5 Minuten ein Auftreten von Verdickungen an den Gallenkapillaren, daneben taillenartige Einschnürungen und tröpfchenartiger Zerfall der Gallenkapillaren zu beobachten. Nach 1¼ Stunden waren die Gallenkapillaren zum großen Teil verschwunden und das Leberparenchym diffus angefärbt.

Nun war noch zu entscheiden, wie weit die Leberzellen in der Lage sind, aus der Umgebung, also nicht auf dem Blutwege, den Farbstoff aufzunehmen und in die Gallenkapillaren abzugeben. In weiteren Versuchen wurde daher eine herausgeschnittene Leber mit Fluorescein betupft. In den Leberzellen zeigten sich nach 1 Minute größere, mit Fluorescein gefüllte Seen. Nach einer weiteren Minute war das Gallenkapillarnetz vollständig ausgefärbt. Der weitere Ablauf der Ausscheidung der herausgeschnittenen Leber ging in den verschiedenen Leberlappen nicht gleichmäßig vonstatten. An einzelnen Stellen war wieder ein allmähliches Abbröckeln der Gallenkapillaren bis zum völligen Verschwinden zu beobachten. An anderen Stellen war ungefähr 2 Stunden nach der Betupfung anstelle der Gallenkapillaren ein breites Band von feinsten Tröpfchen zu sehen. In weiteren Bezirken waren die Gallenkapillaren dicht von einzelnen Tröpfchen eingesäumt, die mit feinen Stielen mit den Gallenkapillaren in Verbindung standen. Nach 2 Stunden 20 Minuten traten größere Fluoresceinflecken auf, die ungefähr die Größe einer Leberzelle besaßen und zentral einen dunklen Kernschatten zeigten. Mit dem Auftreten der großen Seen in den Leberzellbalken, bzw. mit der Anfärbung der einzelnen Leberzellen verschwanden die Tröpfchen an den Gallenkapillaren zusehends. Es ist anzunehmen, daß bei dem allmählichen Absterben des Organs das Fluorescein aus den Regionen der Gallenkapillaren in die Leberzellen zurückwandert. Denn an den Stellen, an denen reihenförmig die ganzen Zellbalken ausgefärbt waren, waren die Tröpfchenreihen der Gallenkapillaren restlos verschwunden. Dieses Bild ging allmählich in eine diffuse Färbung aller Leberzellbalken über, wie es sonst beim Absterben des Tieres auch beobachtet wurde.

Wurde eine herausgeschnittene Leber, die mit Tyrodelösung befeuchtet und 2 Stunden kalt gestellt war. erst nach 2 Stunden mit Fluorescein betupft, beobach-

tete ich zwar noch eine Bildung von größeren Fluoresceintropfen in den Leberzellen, aber keine Gallenkapillaren mehr. Es sind also nach Ablauf von 2 Stunden die Verhältnisse in der herausgeschnittenen Leber soweit gestört, daß eine Anfärbung der Gallenkapillaren nicht mehr erzielt werden kann.

Choledochusunterbindung.

Nach den Versuchen mit Unterbindung der *vena porta* und an der herausgeschnittenen Leber wurde folgender Versuch am *ductus choledochus* gemacht. Der *ductus choledochus* wurde dicht an seiner Einmündungsstelle ins Duodenum unterbunden und durchtrennt. Nach Injektion von ½ ccm Fluorescein 1 : 1000 in den Schenkellymphsack war gegenüber dem Normalbild während der ersten Phase kein Unterschied zu beobachten. 20 Minuten nach der Injektion war das Gallenkapillarnetz im ganzen Gesichtsfeld voll ausgefärbt. In der weiteren Ausscheidung kam es zu einer starken Auftreibung der Gallenkapillaren. Diese Auftreibung war stets unterbrochen von stark verdünnten Stellen in den Gallenkapillaren und trat vor allem an deren Teilungsstellen auf. Sie ist auf die Stauung des Fluoresceins in den Gallenkapillaren zurückzuführen, und gerade ihr Auftreten an den Teilungsstellen dürfte daher kommen, daß hier die Stelle des geringsten Widerstandes gegen den Binnenkapillardruck zu finden ist. Die Volumenzunahme der Gallenkapillaren wuchs auf das 4- bis 5fache eines Gallenkapillarnormalquerschnittes an. Dieser Zustand hielt sich etwa 10—20 Minuten. Im Anschluß daran war ein Zurücktreten des Fluoresceins von den Gallenkapillaren in die Leberzellen zu beobachten. Die Leberzellen färbten sich rasch und außerordentlich stark an, während die Gallenkapillaren im gleichen Maß abblaßten und unsichtbar wurden. Das Fluorescein in den Leberzellen wurde in größeren Seen angesammelt und wieder rückläufig in die Blutbahn

abgegeben. Trotz weiteren Angebots von Seiten des Serums war während der ganzen Beobachtungszeit eine neue Anfärbung der Gallenkapillaren nicht mehr zu sehen.

Wenn von anderer Seite angenommen wird, daß die Unterbindung des *ductus choledochus* nur zu einer herabgesetzten Ausscheidung führen würde oder in den extremen Fällen Leberzellen und Gallenkapillaren nur teilweise angefärbt würden, so deckt sich das nicht mit meinen Befunden. In allen Choledochusunterbindungen kam es nicht nur zur Ausfärbung eines vollen Gallenkapillarnetzes, sondern auch zu einer mächtigen Aufblähung der Gallenkapillaren bis zum Uebertritt des Farbstoffs in die Leberzellen. Es ergab sich also das Bild, das man bei der Entstehung des mechanischen Ikterus durch Choledochusverschluß theoretisch erwarten mußte.

Zusammenfassung.

Aus meinen Versuchen geht zunächst hervor, daß das saure Fluorescein in der Leber in stärkstem Maße ausgeschieden wird, wie schon früher Ellinger und Hirt, Hartoch, Hallic und Gicklhorn beobachtet haben. Es ergibt sich ferner, daß für die Ausscheidung des Fluoresceins in der Leber der Blutdruck eine untergeordnete Rolle spielt. Es liegt nahe anzunehmen, daß an der Leber mit venösem Wundernetz und außerordentlich geringen und stark schwankenden Drucken die Ausscheidung in die Gallenkapillaren unter geringem Druck stattfindet. Beim Vergleich mit der Niere ist es so, daß wir ein ganz parallel gehendes Verhalten der organ-spezifischen Epithelzellen annehmen müssen. Was in der Niere nur ein Ausnahmefall ist, nämlich die Durchgabe von Farbstoffen aus Blutkapillaren durch das Epithel in die Kanälchenlichtung, ist bei der Leber ein dauernder Zustand. Es wäre in diesem Verhalten eine Erklärung gegeben für das normale Arbeiten des

Organs unabhängig von den Blutdruckschwankungen, da es anscheinend genügt, daß das auszuscheidende Material nur den Leberzellen vom Blutwege angeboten wird, worauf die Zelle in der Lage ist, die Ausscheidung von sich aus zu bewirken.

Die ganze Art des Ablaufs der Ausscheidung spricht dafür, daß von der Blutkapillarseite der Leberzellen, bzw. ihrer äußeren Oberfläche nach der Richtung der Gallenkapillaren ein bestimmtes Gefälle besteht, das auch an der nicht durchströmten Leber postmortal bestehen bleibt. Wenn man mit Keller für die Wanderung des positiven Fluoresceins elektrische Kräfte annimmt, so dürfte damit der größte Teil der beobachteten Erscheinungen erklärt werden können. Keller ist der Ansicht, daß in den Gallenkapillaren sehr starke negative Spannungen bestehen, die erheblich negativer sind als die Blutkapillaren und das Leberzellplasma. Folgen wir dieser Vorstellung, dann wäre der Vorgang so zu deuten, daß es zunächst im Leberparenchym durch Anreicherung des positiven Fluoresceins an einzelnen Stellen oder über größere Strecken der Leberzellen verteilt zu einer Ladungsänderung kommt. Der positive Farbstoff wird in den Leberzellen gehalten und sogar aufgespeichert, bis schließlich positive Potentiale in den Leberzellen herrschen. Erst dann wird der Farbstoff schlagartig an die Gallenkapillaren abgegeben. Es ist also nicht so, wie Keller annimmt, daß der Farbstoff sofort und gleichmäßig in die Gallenkapillaren diffundiert; vielmehr findet zunächst in den Leberzellen eine Anreicherung des positiven Farbstoffes statt. Mit dem Eintritt des Fluoresceins in die Gallenkapillaren beobachtet man dort eine starke Konzentration des Farbstoffes. Im Laufe der Ausscheidung müssen sich, wenn man den Keller'schen Auslegungen folgen will, innerhalb des Leberparenchyms die Ladungen ändern. Das Auftreten von Tröpfchen rechts und links der Gallenkapillaren, die man den Sekretgranula der normalen Histologie gleichstellen kann, spricht da-

für, daß in der den Gallenkapillaren zugewandten Seite der Leberzellen in der Endphase der Ausscheidung starke negative Ladungen auftreten. Die Unregelmäßigkeit und vor allem die starke Veränderlichkeit der Größe der Tröpfchen spricht gegen die Auffassung, daß es sich um präformierte Sekretstraßen (intrazelluläre Sekretstraßen) handelt. Gegen Ende der Ausscheidung zeigt sich im völligen Abbröckeln der Gallenkapillaren und in der Reihenbildung von Farbstofftröpfchen, daß die Gallenkapillaren ihre starke negative Ladung verlieren.

Um die ursprünglichen Verhältnisse wieder herzustellen, scheint die Leber einer gewissen Erholungspause zu bedürfen. Es geht daraus hervor, daß nach der vollendeten Ausscheidung trotz ausgezeichneten Gesamtzustandes des Tieres erneut angebotenes Fluorescein erst nach Stunden wieder in die Gallenkapillaren abgegeben wird.

Für das Bestehen solcher Spannungsunterschiede sprechen auch die Versuche an der herausgeschnittenen Leber, bei denen der Farbstoff durch Betupfen nur von der Oberfläche angeboten wurde. Er gelangt auch hier ebenso wie beim intakten Tier in die Gallenkapillaren. Allerdings verhindert das allmähliche Absterben des Leberparenchyms eine Weitergabe des in ihm noch vorhandenen Farbstoffes, zumal hier der Nachschub fehlt. Der Farbstoff gelangt in der Endphase aus den Gallenkapillaren wieder zurück in das Leberparenchym.

Schließlich ergibt der Versuch 2 Stunden nach Herausschneiden der Leber, daß die Kräfte nicht mehr ausreichen, um den Farbstoff bis zu den Gallenkapillaren zu treiben. Es kommt zwar zur Bildung von Sekrettropfen an der Stelle der Gallenkapillaren, aber nicht mehr zu einer gleichmäßigen Ausfärbung derselben.

Die normale Ausscheidung des Trypaflavins beim Winterfrosch.

Nach Klärung der Ausscheidung des sauren Fluoresceins wurde die Ausscheidung des basischen Trypaflavins untersucht. Die Anordnung der Versuche war die gleiche wie bei der Fluoresceinausscheidung. Die angewandten Konzentrationen waren 1 : 500 bis 1 : 1000. Die Injektion erfolgte in Schenkellymphsack und Bauchvene. Die Versuche wurden auch hier in akuter und chronischer Reihe durchgeführt. Die Fluoreszenz des Trypaflavins im Organismus ist schwächer, deshalb wurden für die Beobachtung im allgemeinen die helleren Ultraviolettfilter No. UG 1,1 doppelt, die auch noch violett und blau im sichtbaren Licht durchlassen, angewandt. Das reflektierte sichtbare Violett und Blau wurde durch das in den Tubus eingelegte entsprechende Gelbfilter absorbiert.

Normalversuche.

Im Verlauf des Versuches lassen sich 4 Phasen erkennen:

1. Phase: Zwei bis vier Minuten nach Injektion in den Schenkellymphsack sind im Blut die Kerne der Erythrocyten schwach, die der Leukocyten stärker angefärbt. Nach weiteren 2—4 Minuten wird die Färbung der Kerne zusehends kräftiger. Das Serum leuchtet nicht auf.

2. Phase: Der Farbstoff dringt langsam und gleichmäßig von der Blutseite in die Leberzelle ein. Nach ca. 15 Minuten kommt es zu einer sich steigernden Anfärbung der Leberzellen. Von örtlich beschränkter Anhäufung des Farbstoffs in einzelnen Leberzellen, wie ich es bei

Fluoresceinversuch an der Bildung von Farbstoffseen einige Male beobachtet habe, ist beim Trypaflavin nichts zu sehen. Es zeigt sich eine gleichmäßige Durchdringung des Protoplasmas der Leberzellen mit Trypaflavin, die in einem blaßgrünen Licht aufleuchten. Der Farbstoff reichert sich in der Leberzelle unter Aussparung der Kerngegend an. Die Stelle des Kerns bleibt zunächst dunkel und ungefärbt, das Protoplasma nimmt weiter an Helligkeit zu und bekommt schließlich ein gelbgrünes Fluoreszenzlicht. Die Zellgrenzen sind als dunkle, scharf gezogene Linien deutlich sichtbar. Ebenso sind die Gallenkapillaren und die zwischenzelligen Sekretkapillaren als dunkle Aussparungen erkennbar. Im Gegensatz zu den Fluoresceinbildern werden die in chromgelbem Licht eigenfluoreszierenden Granula, die ich am Anfang beschrieben habe, vom Fluoreszenzlicht des Trypaflavins nicht überstrahlt und bleiben auch während der ganzen Ausscheidungsperiode sichtbar. Dieser Zustand besteht nur 5 bis 10 Minuten und geht dann meist sehr rasch über in die folgende Phase.

3. Phase: Der Farbstoff, der bisher gleichmäßig im Protoplasma der Leberzellen angereichert wurde, tritt plötzlich in die Kerne ein, die jetzt in einem gelbgrünen Licht gleichmäßig gefärbt erscheinen. In dem Augenblick, in dem der Farbstoff in den Kern eingeschossen ist, werden die Leberzellen dunkler und die Zellgrenzen, Gallenkapillaren und die zwischenzelligen Sekretkapillaren verschwinden, da jetzt zwischen dem Protoplasma der Leberzellen und den Stellen der Gallenkapillaren kein nennenswerter Helligkeitsunterschied vorhanden ist. Auch dieses Bild bleibt nur kurz bestehen.

4. Phase: Nach etwa einer halben Stunde beobachtet man eine Anreicherung des Farbstoffes im Kern selbst an einzelnen Stellen. Es kommt zu starker Anfärbung der Kernmembran, die zunächst zartgrün, dann immer heller gelbgrün aufleuchtet und zur Bildung feinster

hell aufleuchtender Tröpfchen, die durch feine leuchtende Linien miteinander verbunden zu sein scheinen. Dazwischen wiederum liegen ganz ungefärbte, dunkle Stellen. Da an den Leberzellen schwer zu entscheiden ist, ob diese Anfärbung das Kernplasma oder das Chromatingerüst darstellt, wurden Säugetierembryonen, die lebend aus dem Uterus herausgenommen wurden und in Verbindung mit der Placenta blieben, mit Trypaflavin betupft. Dabei gelang es in der Haut einwandfrei die Chromatinschleifen in den sich teilenden Epithelzellen mit Trypaflavin anzufärben. Ich konnte dabei sämtliche Stadien der Zellteilung bei schärfster Ausfärbung der Chromosomen beobachten. Es ist also sicher, daß das Trypaflavin von der lebenden Chromatinsubstanz angenommen wird. Trotzdem spricht die Anfärbung der Kernmembran dafür, daß wir es in diesem Augenblick mehr mit einer Anreicherung des Farbstoffes im Plasma zu tun haben. Es bleibe dahingestellt, ob nicht auch Teile des Chromatingerüstes mit Trypaflavin angefärbt sein können.

Dieser Zustand bleibt sehr lange Zeit bestehen. Beim Winterfrosch habe ich nie eine Abgabe des Farbstoffes in die Gallenkapillaren festgestellt, zum mindesten gelang es mir nicht, ein Aufleuchten des Farbstoffes in den Gallenkapillaren zu beobachten. Da wir aber auch ein Aufleuchten des Trypaflavins im Serum nicht wahrnehmen können, gibt uns das Nichtsichtbarwerden des Farbstoffes in den Gallenkapillaren keinen Aufschluß darüber, ob der Farbstoff nicht doch mit der Galle ausgeschieden wird. Im allgemeinen stellt die 4. Phase den Endzustand der Trypaflavinausscheidung dar, der über Tage und Wochen bestehen bleiben kann. Das Trypaflavin bleibt mit großer Zähigkeit an sämtlichen Körperzellen haften und wird ganz allmählich abgegeben.

Auch hier gebe ich ein Versuchsprotokoll:

Nr. 22 12. 1. 1933. Winterfrosch
Okular 7
Objektiv 75
Filter U G 1,1 doppelt

14,28 Uhr: Eine Messerspitze Urethan auf den Rücken

15,00 Uhr: Eröffnet.

15,03 Uhr: Ungefärbte Leber: Leberzellen mittelhell, grün fluoreszierend. Gefäße dunkel, keine Zirkulation erkennbar. Starke Eigenfluoreszenz, im Verlauf der Gefäße kleine chromgelb leuchtende Granula in der ganzen Leber dicht über und neben den Gefäßen liegend. An wenigen Stellen auch innerhalb der Leberzellen. Daneben größere goldbraun leuchtende Schollen an der Gefäßwand.

15,12 Uhr: 1 ccm Trypaflavin 1 : 500 in rechten Schenkellymphsack.

15,15 Uhr: Serum dunkel, Blutzellen grün aufleuchtend, Leukocyten stark hellgrün durchschießend. Zirkulation sehr gut, Eigenfluoreszenz unverändert sichtbar, Leberzellen mittelhell. Vereinzelt Endothelzellen gefüllt mit Pigmentgranula.

15,17 Uhr: Blutzellen kräftiger gefärbt, sonst unverändert.

15,23 Uhr: Leberzellen fluoreszieren hellgrün, in der Farbe gleich den Leukocyten. Eigenfluoreszenz noch sichtbar, etwas blasser als an der ungefärbten Leber. Zirkulation gut. Innnerhalb der Leberzellen randständig dunkle Aussparungen.

15,24 Uhr: Leberzellplasma hellgrün, scheint in einigen Zellen granuliert. Leberzellgrenzen jetzt dunkel und scharf sichtbar. Dunkle Aussparungen innerhalb der Leberzellen an der Stelle der Leberzellkerne. Gallenkapillaren und zwischenzellige Sekretkapillaren ebenfalls ganz dunkel ungefärbt ausgespart. Eigenfluoreszenz unverändert. Blutzellen grün, Leukocyten heller, leuchtend grün. Einzelne Leberzellbalken sind heller grün als die benachbarten Leberzellen und stechen stark leuchtend gegen ihre Umgebung ab. In vielen Zellen sind ungefärbte, sagokornartige Kügelchen sichtbar, die am zahlreichsten an der Gefäßseite der Leberzellen liegen.

15,35 Uhr: Die dunkel ausgesparten Leberzellkerne füllen sich mit Farbstoff, leuchten jetzt heller grün als das Leberzellplasma auf. Leberzellgrenzen sind kaum noch erkennbar, Protoplasma der Leberzellen wird blasser und dunkler, sodaß die Leberzellgrenzen kaum mehr zu unterscheiden sind. Auch Sekretkapillaren nicht mehr sichtbar. Eigenfluoreszenz unverändert.

15,41 Uhr: Zirkulation sehr gut. Blutzellen wie 15,15 Uhr. Leberzellplasma diffus grün, dunkler als der hellgrün ausgefärbte Leberzellkern. Im Leberzellkern tauchen feinste gelbgrün leuchtende Pünktchen auf. Um den Kern doppelt konturiert

gelbgrün leuchtende Membran. Die Kerne erscheinen größer als die noch undifferenzierten 15,35 Uhr beschriebenen. Eigenfluoreszenz noch schwach sichtbar. Manchmal im Gesichtsfeld eine Kupffersche Sternzelle mit feinsten Pigmentgranula. Einzelne Zellen sind übersät mit durchscheinenden ungefärbten Sagokörnchen.

15,50 Uhr: Unverändert.

15,55 Uhr: Eine Messerspitze Urethan auf den Schenkel.

16,20 Uhr: Bild wie 15,41 Uhr. Im Gesichtsfeld eine Riesenzelle mit bräunlich-grünem Protoplasma, hellgrünem Kern mit feiner hellgrüner Kernmembran und scharf sichtbarer, dunkler Zellgrenze. Das Protoplasma scheint granuliert. Zirkulation sehr gut. Leukocyten blasser grün als die Leberzellkerne, aber noch heller als die schon entfärbten Erythrocytenkerne. Spärliche Eigenfluoreszenz.

16,48 Uhr: Leberzellkerne hell, Protoplasma diffus dunkel. Im Protoplasma rötlichgelbe Stäubchen, in vielen Zellen an den Zellgrenzen liegend, die dadurch an diesen Zellen hell beleuchtet erscheinen. An anderen Stellen liegen diese Granula halbmondförmig dicht um den Kern; in einer benachbarten Zelle liegen sie strahlenförmig zum Kern und zur Seite der Gallenkapillaren.

17,05 Uhr: Unverändert. Zirkulation gut.

17,17 Uhr: Die rötlichgelben Granula um den Kern verschwunden. Leberzellkerne unverändert gelbgrün, intensiv leuchtend. Zellplasma dunkel. Einzelne Zellbalken enthalten noch Farbstoff, an diesen Stellen granuliertes Plasma. Eigenfluoreszenz sichtbar.

17,40 Uhr: Unverändert. Zirkulation gut. Eigenfluoreszenz stark. An einem großen Gefäß längsverlaufend Nervenfaserbündel mit Schwannschen Kernen.

18,35 Uhr: Leberzellplasma dunkel, bräunlich. Zellgrenzen nicht erkennbar, Leberzellkerne unverändert hellgrün mit leuchtend gelbgrüner Membran und ebensolchen Pünktchen im Kerninnern. Zirkulation stellenweise träge. Blutzellen dunkel, vereinzelt noch ein blaßgrüner Leukocyt.

19,00 Uhr: Unverändert. In keiner Leberzelle sind mehr die sagokornartigen ungefärbten Kügelchen zu sehen. Zirkulation gut.

20,10 Uhr: Zirkulation gut. Leberzellplasma und Blutkerne völlig entfärbt bis auf eine Stelle am Rand des Leberlappens, an der das Plasma der Zellen noch etwas Farbstoff enthält. Sonst Gesichtsfeld dunkel bis auf die unverändert hell gefärbten Leberzellkerne.

20,32 Uhr: Gesichtsfeld dunkel, Farbstoff nur mehr in den Kerngebieten, die noch das gleiche Bild zeigen. Zirkulation nur noch mit Filter U G 1 0,5 einfach zu erkennen. Zirkulation gut.

20,40 Uhr: Leber herausgeschnitten in 4prozentigem Formol fixiert.

Wenn hier für die Ausscheidung des Trypaflavins und damit für die Ausscheidung basischer Farbstoffe kein erheblicher Fortschritt erschlossen werden kann, sind wir doch gerade durch die deutliche Anfärbung in der Kernstruktur in der Lage, weitere histologische Einzelheiten in der lebenden Leberzelle zu erkennen. Während des Ueberganges von Phase 3 zu Phase 4 lassen sich im Protoplasma der Leberzellen wiederholt feinste Stäubchen wahrnehmen, die gehäuft an der Seite der Gallenkapillaren liegen. Die Anordnung dieser Stäubchen, die in einem gelbbraunen Licht fluoreszieren, ist in den verschiedenen Leberzellen des gleichen Tieres nicht einheitlich. In einzelnen Zellen beobachtet man sie halbmondförmig, dicht gedrängt um den Kern, in anderen isoliert, zwischen Kern und Gallenkapillaren im Protoplasma liegen. Einzelne Häufchen wiederum lassen feinste Linien von reihenförmig angeordneten Stäubchen konvergierend zum Kern und divergierend zur Zelloberfläche verlaufen. Endlich finden sich Leberzellen, die mit diesen Stäubchen vollgestopft sind, sodaß der Kern ganz an den Rand der Zelle verlagert ist. Sämtliche beobachteten Bilder stimmen mit den verschiedenen von Kremer dargestellten sogenannten Sekretionsphasen überein. Kremer glaubt auf Grund seiner Beobachtungen an der Leber, die sich über ein Jahr erstrecken, feststellen zu können, daß der Kern bei der Bildung des Gallenfarbstoffes mitbeteiligt sei. Weiterhin fand er die von mir in ein und derselben Leber beobachteten verschiedenen Anordnungen der Stäubchen immer nur in zeitlich recht beträchtlichen Abständen über das ganze Jahr hinweg, und zwar so, daß zu Beginn des Sommers um den Kern herum Halbmonde auftreten, die sich dann im Lauf des Jahres in den Protoplasmaleib vordrängen und dann in die Gallenkapillaren ausfließen. Diese Stäubchen, die ich zunächst für Gallenfarbstoff hielt, zeigen in ihrer ganzen Lage und Anordnung eine solche Uebereinstimmung mit den Mitochondrien der

Leberzellen, daß es sich hier zweifellos um eine Anfärbung derselben handelt. Eine Abstammung aus der Kernsubstanz oder Identität mit der Kernstruktur scheint auf Grund des ganz verschiedenen Fluoreszenzlichtes in höchstem Maße unwahrscheinlich. Eine Ausscheidung dieser Stäubchen konnte ich nie beobachten. Nach ungefähr 30 Minuten blassen sie allmählich ab.

Einen weiteren Bestandteil der Leberzellen bilden feinste helle Kügelchen, die weder das Trypaflavin noch das Fluorescein annehmen. Manches Mal ließen sie sich auch im Fluoresceinbild erkennen. Diese ungefärbt bleibenden glasartigen Kügelchen, die Sagokörnchen ähneln, liegen dicht gepackt in den Zellen. Sie werden dadurch sichtbar, daß an ihrer Oberfläche das Fluoreszenzlicht in das Protoplasma der Zelle reflektiert wird. Nach meiner Beobachtung liegen diese Kügelchen häufig an der Blutkapillarseite der Leberzellen. Ich konnte des öfteren wahrnehmen, daß in den Zellen, die mit den Kügelchen dicht gefüllt waren, die kleinen gelbbraun fluoreszierenden Stäubchen nicht oder nur äußerst spärlich vorhanden waren. Dem ganzen färberischen Verhalten nach scheinen diese Kügelchen feinste Fettröpfchen in den Leberzellen zu sein. Sie sind am besten in Phase 2 zu beobachten, in der das Protoplasma hell aufleuchtet, während Zellgrenzen und Zellkerne dunkel sind. Mit dem Uebertritt des Farbstoffes vom Protoplasma in den Zellkern werden diese Kügelchen unsichtbar, da sie selbst nicht gefärbt sind und nur im reflektierten Licht aufleuchten. Diese Arbeit beschränkt sich im wesentlichen auf die Beobachtung der Ausscheidung des Farbstoffes in der Leber, ich habe deshalb davon Abstand genommen, weitere experimentelle Untersuchungen über Aufbau und Verschiebung dieser Fettröpfchen und ihre Abhängigkeit von Ernährung, Jahreszeit usw. vorzunehmen.

Eine weitere Beobachtung von Einzelheiten bei der Trypaflavinfärbung, die am Ende der Laichperiode er-

folgte, war die Anfärbung feinster Nervenfasern in der Leber und in der Niere. Ich konnte in der lebenden Leber interzellulär sich aufteilende Nervenfasern mit Trypaflavin anfärben und ebenso in der Niere Nerven längs der Gefäßwände und ihre Aufteilung verfolgen. Es färbten sich dabei die längs der Nervenfasern liegenden Schwannschen Kerne deutlich an. Weiterhin gelang es in fünf Versuchen zu Beginn der Trypaflavinfärbung, ein über die ganze Oberfläche der Leber verzweigtes, unregelmäßiges Netz darzustellen. Dieses Netz konnte ich allerdings auch in drei Fluoresceinversuchen erkennen; sichtbar war es nur für wenige Minuten, nämlich so lange, wie die Leberzellen noch keinen Farbstoff angenommen hatten. Mit der Anfärbung des Protoplasmas der Leberzellen war das Netz verschwunden. Dieses Netz beobachtete auch Gicklhorn mit der Methode von Ellinger und Hirt an der Leber und ist ebenfalls der Ansicht, daß es sich um das Lymphgefäßnetz handelt. Das Verschwinden läßt sich darauf zurückführen, daß mit der Anfärbung der Leberzellen das wesentlich schwächere Lumineszenzlicht der Lymphgefäße überstrahlt wird. Trotzdem bleibt die Möglichkeit, daß der Farbstoff in den Lymphgefäßen weiter enthalten ist, da ich eine Ausscheidung des Trypaflavins in die Gallenkapillaren nur während der Laichperiode beobachtete. Beim Winterfrosch war keine Ausscheidung in die Gallenkapillaren wahrzunehmen. Das sich über einen größeren Zeitraum erstreckende langsame Verschwinden des Farbstoffes aus den Leberzellen könnte dahin erklärt werden, daß er allmählich aus den Leberzellen in die Lymphbahn abgegeben wird, um schließlich auf dem Weg über die Nieren zur Ausscheidung zu kommen.

Ueber die Lage der Kupfferschen Sternzellen in den Pfortaderästen bestehen bekanntlich in der Literatur verschiedene Ansichten. Ich konnte in der mit

Trypaflavin angefärbten Froschleber sehr häufig Stellen beobachten, in denen die Kupfferschen Sternzellen scheinbar quer durch die Lichtung der Vene aufgehängt waren. An diesen Stellen wurden die Blutkörperchen im strömenden Blut von den Sternzellen aufgefangen. Dabei war das Anprallen der Blutkörperchen an die federnd aufgehängten Sternzellen gut wahr- Haufen von Leukocyten, die minutenlang an einer zunehmen. In kurzer Zeit sammelten sich hier ganze Stelle hängen blieben, ein Bild, das auch Berg an der fixierten Froschleber beschreibt. An den Teilungsstellen von Kapillaren sah ich Sternzellen keilförmig in die Blutbahn vorspringen, und es war gut zu beobachten, wie die angeschwemmten Blutkörperchen durch die Sternzellen festgehalten und dann abwechselnd nach rechts oder links weitergeleitet wurden. Ob sich hierbei die Form der Kupfferschen Sternzellen wesentlich verändert, war nicht zu erkennen. Es besteht nach meinen Beobachtungen jedenfalls kein Zweifel, daß die Kupfferschen Sternzellen zumindest weitgehend in die Lichtung der Gefäße vorspringen, wodurch sie in die Lage versetzt werden, die Blutkörperchen aufzufangen. Es ist daher wohl anzunehmen, daß die Ansicht Zimmermanns richtig ist, die Sternzellen seien frei in der Lichtung, ähnlich wie ein Mikrophon im Ring, aufgehängt.

Zusammenfassung.

Das Verhalten des basischen Trypaflavins ergibt ein anderes Bild als das des sauren Fluoresceins. Im allgemeinen gilt für das Trypaflavin, daß es im Organismus die Kerne anfärbt und im Serum nicht aufleuchtet. Nach dem Eindringen in die Leberzellen wird es im Protoplasma stark angereichert unter Aussparung der Kerngebiete. Wenn wir der Vorstellung Kellers folgen, dann müßten wir eine immer stärkere Anreicherung des an sich negativen Protoplasmas mit

dem ebenfalls negativen Trypaflavin annehmen. Das plötzliche Eindringen des Farbstoffes in den Kern müßte dann in der 3. Phase so zu deuten sein, daß unter normalen Verhältnissen zwischen dem positiven Kern und dem negativen Plasma nur sehr geringe Spannungsunterschiede vorhanden sind. Mit der stärkeren Negativisierung des Plasmas durch den angereicherten Farbstoff müßte zwischen Kern und Protoplasma ein so starkes Potentialgefälle eintreten, daß der positive Kern den negativen Farbstoff an sich reißt.

Neben der physikalischen Bindung im Kern scheint eine chemische des Trypaflavins stattzufinden, denn das in der Phase 4 (Kern mit Membran) gezeigte Kernbild ist ein Zustand, der über Stunden bestehen bleibt. Das Trypaflavin wird hiernach lange in den Leberzellen und hauptsächlich im Kern festgehalten. In den Versuchen war der Abflußweg des Trypaflavins aus der Leber eindeutig nicht festzustellen. Nach den Angaben von Keller soll ein großer Teil des basischen Trypaflavins in die positive Lymphe abgegeben werden. Ich konnte aber in den Versuchen nur in einigen Fällen zu Beginn ein Lymphnetz mit Trypaflavin darstellen. Da aber bei der stärkeren Anfärbung der Leberzellen das zarte Lymphnetz überstrahlt wird, kann man die Annahme Kellers weder beweisen noch widerlegen.

Aus dem Verhalten des Trypaflavins ergibt sich, daß basische Farbstoffe ebenso wie saure von der lebenden Leberzelle aufgenommen werden.

Mit vorliegenden Versuchen glaube ich, die Frage des n o r m a l e n Ausscheidungsablaufes zur Genüge geklärt zu haben. Die sich an diese Beobachtungen anschließenden biologischen und klinischen Fragestellungen dürfen nach der nunmehr festgestellten Normalausscheidung beider Farbstoffe zu weiteren aufschlußreichen Ergebnissen über die Leberarbeit führen.

Fluorescein, akute Versuche.

Datum	Menge	Konzentration	Ort	Spontanfluoreszenz	Anfärbung: Serum nach	Anfärbung: Leberzellen nach	Anfärbung: Gallenkapillaren nach	Anfärbung: Tropfenbildung nach	Bemerkungen
15. 11. 32	1 cm^3	1:500	Schenkellymphsack	+ +	4'	9'	22'	80'	
16. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+	6'	17'	25'	90'	
18. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	schwach +	2'	10'	18'	68'	
21. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+ +	3'	11'	23'	94'	
23. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+	2'	15'	24'	79'	
24. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+ + +	4'	13'	21'	82'	
25. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	schwach	5'	16'	25'	74'	
28. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+	6'	14'	25'	75'	
29. 11. 32	1 cm^3	1:500	„	+ +	3'	12'	28'	79'	
1. 12. 32	1 cm^3	1:1000	„	–	7'	18'	27'	81'	
2. 12. 32	1 cm^3	1:1000	„	+	9'	15'	35'	85'	
3. 12. 32	1 cm^3	1:1000	„	+	5'	10'	28'	76'	
6. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+ + +	6'	11'	30'	80'	
7. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+	3'	15'	27'	78'	
16. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+	4'	12'	33'	84,	
17. 12. 32	$^1/_5$ cm^3	1:1000	„	schwach +	7'	14'	21'	86'	
18. 12. 32	$^1/_{10}$ cm^3	1:1000	„	+	8'	20'	29'	83'	
19. 12. 32	1 cm^3	1:1000	„	+ +	14'	25'	60'	110'	
19. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	i. v. (Bauchvene)	–	0'	4'	27'	70'	
20. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+	0'	3'	21'	70'	
20. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+	0'	2'	19'	76'	
12. 11. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+ +	0'	1'	28'	83'	
13. 11. 32	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+	0'	7'	23'	85'	
9. 1. 33	$^1/_2$ cm^3	1:1000	Magen	+	20'	37'	52'	120'	
14. 1. 33	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+	27'	34'	55'	140'	
18. 1 33	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+	19'	30'	60'	110'	
18. 12 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	i. v. (Bauchvene)	schwach +	–	10'	40'	70'	unterbundener Leberlappen (Pfortaderunterbindung)
					0'	3'	39'	67'	nicht unterbund. Leberlapp. (Pfortaderunterbindung)
21. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+	–	8'	37'	82'	unterbundener Leberlappen (Pfortaderunterbindung)
					0'	1'	35'	73'	nicht unterbund. Leberlapp. (Pfortaderunterbindung)
21. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+	–	6'	28'	86'	unterbundener Leberlappen (Pfortaderunterbindung)
					0'	2'	25'	79'	nicht unterbund. Leberlapp. (Pfortaderunterbindung)
22. 12. 32	$^1/_2$ cm^3	1:500	„	+ + +	–	7'	33'	93'	unterbundener Leberlappen (Pfortaderunterbindung)
					0'	4'	29'	89'	nicht unterbund. Leberlapp. (Pfortaderunterbindung)
3. 11. 33	$^1/_2$ cm^3	1:1000	Schenkellymphsack	+	3'	11'	20'	–	Farbstoffseen i. d. Leberzellen (Choledochusunterbindung)
7. 11. 33	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+ + +	2'	7'	18,	55'	„ (Choledochusunterbindung)
9. 11. 33	$^1/_2$ cm^3	1:1000	„	+	8'	19'	24'	68'	„ (Choledochusunterbindung)

Fluorescein, chronische Versuche.

Datum	Menge	Konzentration	Ort	Eröffnet nach	Spontanfluoreszenz	Anfärbung				Bemerkungen
						Serum	Leberzellen	Gallenkapillaren	Tröpfchen	
12. 1. 33	1 cm³	1:1000	Schenkellymphsack	24 Stunden	+	–	+	+	+	
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	2 Tagen	schwach +	–	schwach +	+	+	
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	3 Tagen	schwach +	–	–	+	+	
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	4 Tagen	+	–	–	schwach +	+	
12. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	5 Tagen	–	–	–	+	–	
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	6 Tagen	+	–	–	schwach +	–	
12. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	7 Tagen	+ +	–	–	nur vereinzelt +	+	
12. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	8 Tagen	mäßig	–	–	+	+	
12. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	9 Tagen	+ +	–	–	–	+	einzelne Fluoresceinseen
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	10 Tagen	+ + +	–	–	–	–	noch einzelne Seen
20. 1. 33	1 cm³	1:1000	„	17 Tagen	+	–	–	–	–	

Trypaflavin, akute Versuche.

Datum	Menge	Konzentration	Ort	Spontanfluoreszenz	Anfärbung				Bemerkungen
					1. Phase nach	2. Phase nach	3. Phase nach	4. Phase nach	
22. 11. 32	1 cm^3	1:500	Schenkel-Lymphsack	+ +	2'	10'	21'	32'	
12. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	+	2'	12'	23'	29'	
9. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	+	4'	11'	20'	35'	
10. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	schwach +	3'	8'	29'	33'	
11. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	+	4'	10'	27'	31'	
23. 2. 32	1 cm^3	1:500	„	+	2'	14'	25'	30'	
13. 1. 33	1 cm^3	1:1000	„	+ + +	5'	17'	45'	50'	sehr schlechte Zirkulation
16. 1. 33	1 cm^3	1:1000	„	+ +	4'	15'	27'	34'	
17. 1. 33	1 cm^3	1:1000	„	+	3'	9'	26'	3 '	
19. 1. 33	1/2 cm^3	1:1000	„	+	8'	13'	24'	31'	
20. 1. 33	1/2 cm^3	1:500	„	mäßig +	4'	11'	23'	38'	
21. 1. 33	1/2 cm^3	1:500	i. V. Bauchvene	schwach +	1'	6'	22'	29'	
23. 1. 33	1/2 cm^3	1:500	„	schwach +	0'	7'	19'	27'	
24. 1. 33	1/2 cm^3	1:500	„	+ +	0'	8'	20'	29'	
4. 3. 33	1/2 cm^3	1:500	„	+	1'	10'	18'	25'	Laichfrosch. Gallenkap. schwach gelbgrün sichtb.
27. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	+	0'	9'	23'	27'	
30. 1. 33	1 cm^3	1:500	„	+ + +	2'	13'	25'	34'	

Trypaflavin, chronische Versuche.

Datum	Menge	Konzentration	Ort	Eröffnet nach	Spontanfluoreszenz	Anfärbung				Bemerkungen
						Leukocyten-Erythrocyten	Protoplasma der Leberzell.	Gleichmäßig helle Kerne	Differenziert gefärbte Kerne	
1. 2. 33	1 cm³	1:1000	Schenkel-Lymphsack	1 Tag	+ +	+	+	+	—	
„	1 cm³	1:1000	„	1 Tag	+ +	+	+	+	+	
„	1 cm³	1:1000	„	2 Tagen	+	Erythroc. — Leukoc. +	schwach +	—	+	
„	1 cm³	1:1000	„	2 Tagen	+	—	schwach + un leichmäßig	—	+	
„	1 cm³	1:1000	„	3 Tagen	+ +	—	—	—	+	
„	1 cm³	1:1000	„	3 Tagen	—	—	einzelne Zellen +	—	+	Vereinzelte Farbstoffinseln noch sichtbar.
2. 2. 33	1 cm³	1:1000	„	4 Tagen	+ + +	—	—	—	+	
„	1 cm³	1:1000	„	4 Tagen	+	—	—	—	+	
„	1 cm³	1:1000	„	5 Tagen	schwach	—	—	—	+	Noch ganz einzelne hellgrüne Farbstoffinseln.
„	1 cm³	1:1000	„	5 Tagen	+ +	—	—	—	—	
„	1 cm³	1:1000	„	6 Tagen	+ +	—	—	—	—	

Eine ausführliche Veröffentlichung mit Abbildungen erscheint in Zusammenarbeit mit Herrn Professor Dr. Hirt in der „Zeitschrift für gesamte Anatomie und Entwicklungsgeschichte".

Die Versuche wurden im Laboratorium von Herrn Prof. Dr. Hirt gemacht. Ich möchte ihm an dieser Stelle für seine fördernde Unterstützung meinen herzlichen Dank aussprechen.

Literaturangabe.

W. Berg: Zur Pigmentbildung in der Leber und Milz von Amphibien. Sonderdruck aus dem Jahrbuch für Morphologie und mikroskopische Anatomie. 2. Abteilung. Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung Band 33. 1933.

— Zum Nachweis der Eiweißspeicherung in der Leber. Sonderdruck aus Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin, Band 88. 1933.

Ph. Ellinger und A. Hirt: Mikroskopische Untersuchungen an lebenden Organen. 1. Mitteilung: Methodik. Zeitschrift für gesamte Anatomie und Entwicklungsgeschichte 1929, Band 90, Seite 791.

— 2. Mitteilung: Zur Funktion der Froschniere. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 1929, Band 145, Seite 193.

— 3. Mitteilung: Zur Funktion der Froschniere. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 1930, Band 150, Seite 285.

— 4. Mitteilung: Zur Funktion der Froschniere. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 1931, Band 159, Seite 111.

J. Kremer: Die morphologische Gestaltung der Gallensekretion. Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung, Band 33. 1933.

W. Pfuhl: Die verschiedenen Formen der Sternzellen, ihre Lage in den Leberkapillaren und ihre allgemeine Biologie. Sonderdruck aus Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte, Band 81. 1933.

W. Hartoch: Zur Morphologie der Leber- und Nierensekretion. Lebendbeobachtung im Lumineszenzlicht, Sonderdruck aus Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin, Band 79, 1931.

Kuhn, Cyorgy, Wagner-Jauregg: Ueber eine neue Klasse von Naturfarbstoffen. Vorläufige Mitteilung. Sonderdruck aus Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft. Heft 2, Seite 317. 1933.

R. Keller: Die Elektrizität in der Zelle. 1925.

J. Schaffer: „Die paraplasmatischen Einschlüsse der Leberzellen im Fluoreszenzmikroskop und der Leuchtstoff", von F. Querner. Vorläufige Mitteilung in der Sitzung der mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse vom 7. 7. 1932.

K. W. Zimmermann: Ueber das Verhältnis der Kupfferschen Sternzellen zum Endothel der Leberkapillaren beim Menschen. Sonderdruck aus der Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung. Band 14. 1928.

Lebenslauf.

Ich wurde am 11. Juli 1906 in Mannheim als Tochter des Kaufmanns Ernst Ansorge und seiner Frau Ottilie geb. Friedrichs, geboren. Von 1912 an besuchte ich die Elisabethschule in Mannheim, die ich 1922 mit dem Lyzealschlußzeugnis verließ. Im April 1927 machte ich an den städtischen Krankenanstalten in Mannheim mein Staatsexamen als Säuglingsschwester und war hiernach einige Zeit an der Frauenklinik in Freiburg (Brsg.). Im Februar 1929 legte ich als Extraneer an der Tula-Oberrealschule in Mannheim die Reifeprüfung ab.

Die vorklinischen Semester verbrachte ich an der Universität Heidelberg, an der ich nach fünf Semestern das Physikum bestand.

In den klinischen Semestern war ich an den Universitäten Berlin, Wien, München und Heidelberg. In Heidelberg gedenke ich nach vollendetem Studium das medizinische Staatsexamen zu machen.